平成27年度微生物リスク管理基礎調査事業（分離菌株の性状解析２）
委託事業実施要領

１　事業の趣旨（目的）

農林水産省は、食品の安全性の向上を目的として、リスク管理を実施している。食中毒を引き起こす有害微生物については、食中毒の症状の程度やその患者数、海外における対策の取組状況等の情報を収集・分析し、「農林水産省が優先的にリスク管理を行うべき有害微生物のリスト」、「食品の安全性に関する有害化学物質及び有害微生物のサーベイランス・モニタリング中期計画」（平成24年度～28年度）及び「平成27年度サーベイランス・モニタリング年次計画」に基づき、食品の汚染状況、汚染低減対策等について調査を実施している。

本事業は、家畜のふん便等から分離されたE型肝炎ウイルス遺伝子、黄色ブドウ球菌株、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌株及びリステリア・モノサイトジェネス菌株の性状を解析し、リスク管理措置を検討するための分子疫学的な情報を得ることを目的とする。

２　事業の概要

（１）事業の内容

分与されたE型肝炎ウイルス遺伝子、黄色ブドウ球菌株、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌株及びリステリア・モノサイトジェネス菌株の性状解析及び保管を行う。

（２）契約限度額

本事業の委託契約限度額は、平成27年度食品安全確保調査・試験事業委託費のうち微生物リスク管理基礎調査事業委託費の範囲内とする。

（３）実施期間

契約締結年月日から平成27年12月11日までとする。

３　受託先の選定方法

本事業は、別紙のとおり仕様書を定め、民間の分析機関に委託して実施する。委託先の選定は一般競争入札による。なお、調査分析の信頼性を確保するため、以下に掲げる項目を当該競争に参加する者に必要な資格とする。

（１）食品の微生物学的な検査等の業務において、厚生労働省の「食品衛生検査施設等における検査等の業務の管理の実施について」（平成９年４月１日付け衛食第117号）に準拠した精度管理を実施し、適正に運用されていること。

（２）国際的に認知されているFEPAS等の外部精度管理機関の食品微生物分析の技能試験（定量試験が試験項目に含まれるもの）に過去２年以内に参加し、満足な結果（Zスコア≦|2|）であること。

（３）遺伝子分析の信頼性を確保するための組織体制を有していること、検査に係る一連の工程（試料の調製、分析等）に関する標準処理手順書（SOP）若しくはそれに準ずる文書等を整備し、使用機器の定期点検を実施していること。

平成27年度微生物リスク管理基礎調査事業（分離菌株の性状解析２）
委託事業仕様書

１　事業の趣旨（目的）

本事業では、家畜のふん便等から分離されたE型肝炎ウイルス遺伝子、黄色ブドウ球菌株、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌株及びリステリア・モノサイトジェネス菌株の性状を解析し、リスク管理措置を検討するための分子疫学的な情報を得ることを目的とする。

２　事業実施期間

契約締結年月日から平成27年12月11日までとする。

３　事業の概要

微生物リスク管理基礎調査事業において分離されたE型肝炎ウイルス遺伝子、黄色ブドウ球菌株、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌及びリステリア・モノサイトジェネスの性状解析及び保管を行う。

４　検査対象

（１）E型肝炎ウイルス遺伝子
（２）黄色ブドウ球菌
（３）コアグラーゼ陰性ブドウ球菌
（４）リステリア・モノサイトジェネス

５　検査項目及び点数

（１）E型肝炎ウイルス遺伝子

配列解読	42点

（２）黄色ブドウ球菌

エンテロトキシン遺伝子の検出	15点
ロイコシジン遺伝子及びγヘモリジン遺伝子の検出	80点
MLST型の決定	80点
コアグラーゼ血清型の決定	80点
ccr gene complexの検出	80点
spa typeの決定	80点
SCC*mec*型の決定	80点
薬剤感受性試験	80点

（３）コアグラーゼ陰性ブドウ球菌

SCC*mec*型の決定	15点
薬剤感受性試験	15点

（４）リステリア・モノサイトジェネス

血清型の判定	7点
病原遺伝子の検出	7点
MLST型の決定	7点

６　遺伝子及び菌株の入手、保管等

本事業の受託者は、下記により遺伝子及び菌株の入手、保管等を行うものとする。

（１）農林水産省消費・安全局消費・安全政策課（以下「消費・安全政策課」という。）が指定する検査機関から送付されるE型肝炎ウイルス遺伝子（陽性検体のRNA抽出物）及び菌株（黄色ブドウ球菌、コアグラーゼ陰性ブドウ球菌及びリステリア・モノサイトジェネス）を受け取る（冷凍便、受託者着払い）。

（２）検査用として分与された遺伝子及び菌株は、受領後検査を開始するまで冷凍（-80 ℃）で保管する。検査後に残った遺伝子及び菌株は消費・安全政策課の指示があるまで保管しておくこと。

（３）保管用として分与された遺伝子（凍結品70本）及び菌株（凍結乾燥品480本、凍結品400本）は、消費・安全政策課の指示に従い保管する。

（４）受託者は、到着日、検査開始日等の情報を記録する。

（５）菌株等については、委託事業の完了年月日から６か月を経過する日を期限として冷凍により保管する。受託者は、この保管期限内に消費・安全政策課から当該菌株等の引渡し、移送又は廃棄について指示を受けること。

７　検査方法

本事業の受託者は、検査に用いるキット等は、原則として仕様書に定めたものを用いて実施すること。また、キット等は、当該キット等の操作マニュアルに定められたとおり使用すること。

（１）E型肝炎ウイルス

「E型肝炎検査マニュアル」（平成17年４月、国立感染症研究所）に記載されたnested-PCR法により、ORS2領域を増幅し、遺伝子配列を解読する。

なお、PCRの陽性対照には、既知の陽性検体又は約600塩基の合成オリゴヌクレオチドを使用すること。

（２）黄色ブドウ球菌

ア　エンテロトキシン遺伝子の検出

PCR法により５つの遺伝子（*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*）の増幅を行い、標的遺伝子の有無を決定する。PCRの条件については、Johnsonらの方法を参考にすること（Detection of genes for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the polymerase chain reaction. J. Clin. Microbiol. 29, 426-430.）。なお、陽性コントロールには、既知の陽

性検体又はプライマー配列を含む合成オリゴを作成し、使用すること。

イ　ロイコシジン遺伝子及びγヘモリジン遺伝子の検出

PCR法によりロイコシジン遺伝子及びγヘモリジン遺伝子の増幅を行い、標的遺伝子の有無を決定する。PCRの条件については、Linaらの方法を参考にすること（Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin. Infect. Dis. 29, 1128-1132.）。なお、陽性コントロールには、既知の陽性検体又はプライマー配列を含む合成オリゴを作成し、使用すること。

ウ　MLST型の決定

PCR法により７つの遺伝子（*arcC, aroE, glp, gmk, pta, tpi, yqi*）の増幅を行い、それらの増幅遺伝子の塩基配列を決定する。Multilocus Sequence Typing (MLST)のデータベース（http://saureus.mlst.net/）を参照し、７つ遺伝子の塩基配列の組み合わせから菌株を分類する。PCRの条件については、Enrightらの方法を参考にすること（Multilocus sequence typing for characterization of methicillin-resistant and methicillin-susceptible clones of *Staphylococcus aureus*. J. Clin. Microbiol. 38, 1008-1015.）。

エ　コアグラーゼ血清型の決定

ブドウ球菌コアグラーゼ型別用免疫血清「生研」を使用し、コアグラーゼ血清型を決定する。なお、キットの利用方法は、取扱説明書に従うこと。

オ　*ccr* gene complexの検出

別途、消費・安全政策課から受託者に指示するPCR法により*ccr* gene complexの増幅を行い、増幅の有無を確認する。

カ　*spa* typeの決定

Harmsenらの方法により実施する（Typing of Methicillin- resistant *Staphylococcus aureus* in a university hospital setting by using novel software for spa repeat determination and database management. J. Clin. Microbiol. 41, 5442-5448.）。

キ　SCC*mec*型の決定

Kondoら及びMilheiricoらの方法により実施する（Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 264-274及びUpdate to the

multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 3374-3377. ）。

ク　薬剤感受性試験

ドライプレート‘栄研’(製品コード；9DDPD2及び9DRU1C)を用いて、各株における各薬剤に対する最小発育阻止濃度を測定する。実施の際には、精度管理用菌株として*Staphylococcus aureus* ATCC29212を使用すること。

（３）コアグラーゼ陰性ブドウ球菌

ア　SCC*mec*型の決定

Kondoら及びMilheiricoらの方法により実施する（Combination of multiplex PCRs for staphylococcal cassette chromosome *mec* type assignment: rapid identification system for *mec*, *ccr*, and major differences in junkyard regions. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 264-274及びUpdate to the multiplex PCR strategy for assignment of *mec* element types in *Staphylococcus aureus*. Antimicrob. Agents Chemother. 51, 3374-3377. ）。

イ　薬剤感受性試験

ドライプレート‘栄研’(製品コード；9DDPD2及び9DRU1C)を用いて、各株における各薬剤に対する最小発育阻止濃度を測定する。実施の際には、精度管理用菌株として*Staphylococcus aureus* ATCC29212を使用すること。

（４）リステリア・モノサイトジェネス

ア　血清型の判定

リステリア型別用免疫血清により血清型の判定を行う。

イ　病原遺伝子の検出

消費・安全政策課が指定する病原遺伝子(*hlyA*、*inlA*等)について、Indrawattanaらの方法により実施する（Prevalence of *Listeria monocytogenes* in raw meats marketed in Bangkok and characterization of the isolates by phenotypic and molecular methods. J. Health Popul. Nutr. 29, 26-38.）。

ウ　MLST型の決定

PCR法により以下の７つの遺伝子の増幅を行い、それらの増幅遺伝子の塩基配列を決定する。また、Multilocus Sequence Typing (MLST) のデータベース（http:// www.pasteur.fr/ recherche/genopole/PF8/mlst/Lmono.html）を参照し、７つの遺伝子の塩基配列の組み合わせから菌株を分類すること。

＊対象遺伝子

ABC transporter (*acbZ*), beta-glucosidase (*bglA*), catalase (*cat*),

Succinyl diaminopimelate desuccinylase (*dapE*), D-amino acid aminotransferase (*dat*), L-lactate dehydrogenase (*ldh*), histidine kinase (*lhkA*)

（５）その他留意点

（１）から（４）に記載された以外の方法を用いる場合は、採用したい方法が同等の精度を有する方法であることを証明する科学的情報を消費・安全政策課に提出して同課と協議すること。その結果、提案のあった方法が妥当であることが、同課によって確認された場合に限り用いることができる。

８　試験の記録等

（１）結果等は、試験結果として、電子ファイル（Excel等のスプレッドシート）に取りまとめること。

（２）検査記録簿を作成し、消費･安全政策課から提出依頼があった場合にすぐに提出できるようにしておくこと。

（３）試薬等の購入時に添付されている使用説明書等の添付文書については、各１部を保管すること。また、使用説明書等の添付文書が試薬容器等に添付されている場合は、表示内容を転写するなどして、記載内容を記録すること。

９　結果等の報告

本事業の受託者は、定期的に試験の進捗状況、その時点での試験結果の概要を消費・安全政策課に報告すること。また、試験終了後、結果を取りまとめ、電子媒体により、速やかに消費・安全政策課に提出すること。また、消費・安全政策課からの求めに応じて、第８の試験記録について提出すること。

１０　その他

（１）本事業における人件費の算定等に当たっては、「委託事業における人件費の算定等の適正化について」（平成22年９月27日付け22経第961号農林水産省大臣官房経理課長通知）によるものとする。

（２）仕様書に記載のない事項及び疑義が生じた事項については、消費・安全政策課及び受託者両者協議の上処理する。

（３）納入する電子媒体、ウイルスチェックを行い、ウイルスチェックに関する情報（ウイルス対策ソフト名、定義ファイルのバージョン、チェック年月日等）を記載したラベルを添付して提出すること。

別添

委託事業における人件費の算定等の適正化について

１．委託事業に係る人件費の基本的な考え方

（１）人件費とは委託事業に直接従事する者（以下「事業従事者」という。）の直接作業時間に対する給料その他手当をいい、その算定にあたっては、原則として以下の計算式により構成要素ごとに計算する必要がある。

また、委託事業計画書及び実績報告書の担当者の欄に事業従事者の役職及び氏名を記載すること。

人件費＝　時間単価※1　×　直接作業時間数※2

※１　時間単価

時間単価については、契約締結時に後述する算定方法により、事業従事者一人一人について算出し、原則として額の確定時に時間単価の変更はできない。

ただし、以下に掲げる場合は、額の確定時に時間単価を変更しなければならない。

・事業従事者に変更があった場合

・事業従事者の雇用形態に変更があった場合（正職員が嘱託職員として雇用された等）

・委託先における出向者の給与の負担割合に変更があった場合

・超過勤務の概念がない管理職や研究職等職員（以下、「管理者等」という。）が当該委託事業に従事した時間外労働の実績があった場合

※２　直接作業時間数

①　正職員、出向者及び嘱託職員

直接作業時間数については、当該委託事業に従事した実績時間についてのみ計上すること。

②　管理者等

原則、管理者等については、直接作業時間数の算定に当該委託事業に従事した時間外労働時間（残業・休日出勤等）を含めることはできない。ただし、当該委

託事業の遂行上やむを得ず当該委託事業のために従事した時間外労働にあっては、直接作業時間数に当該委託事業に従事した時間外労働時間（残業・休日出勤等）を含めることができることとする。

（2）一の委託事業だけに従事することが、雇用契約書等により明らかな場合は、上記によらず次の計算式により算定することができる

人件費＝　日額単価　×　勤務日数

人件費＝　給与月額　×　勤務月数（１月に満たない場合は、日割り計算による）

２．受託単価による算定方法

委託先（地方公共団体を除く。以下同じ。）において、受託単価規程等が存在する場合には、同規程等における単価（以下、「受託単価」という。）の構成要素等の精査を委託契約締結時に行った上で、受託単価による算定を認める。

○　受託単価の構成要素を精査する際の留意点

ア　事業従事者の職階（課長級、係長級などに対応した単価）に対応しているか

イ　受託単価に人件費の他に技術経費、一般管理費、その他経費が含まれている場合は、各単価及びその根拠を確認すること

ウ　受託単価に技術経費、一般管理費等が含まれている場合は、委託事業計画書及び委託事業実績報告書の経費の区分欄に計上する技術経費、一般管理費に重複計上されていないか確認すること。

＜受託単価による算定方法＞

○正職員及び管理者等の時間単価は、受託単価規定等に基づく時間単価を使用すること。 ○出向者、嘱託職員の受託単価計算 事業従事者が出向者、嘱託職員である場合は、受託単価規程等により出向者受託単

価、嘱託職員受託単価が規定されている場合は、それぞれの受託単価を使用することができる。ただし、出向者及び嘱託職員に係る給与については、委託先が全額を負担、一部のみ負担、諸手当が支給されていない等多様であるため、適用する受託単価の構成要素のうち人件費分について精査し、後述する実績単価により算出された人件費単価を超えることは出来ない。

3．実績単価による算定方法

委託先に受託単価規程等が存在しない場合には、時間単価は以下の計算方法（以下「時間単価計算」という。）により算定する。（円未満は切り捨て。）

＜実績単価の算定方法＞

○正職員、出向者（給与等を全額委託先で負担している者に限る）及び嘱託職員の人件費時間単価の算定方法

原則として下記により算定する。

人件費時間単価＝（年間総支給額＋年間法定福利費等）÷年間理論総労働時間

・年間総支給額及び年間法定福利費の算定根拠は、「前年支給実績」を用いるものとする。ただし、中途採用など前年支給実績による算定が困難な場合は、別途委託先と協議のうえ定めるものとする（以下、同じ。）。

・年間総支給額は、基本給、管理職手当、都市手当、住宅手当、家族手当、通勤手当等の諸手当及び賞与の年間合計額とし、時間外手当、食事手当などの福利厚生面で支給されているものは除外する（以下、同じ。）。

・年間法定福利費等は、健康保険料、厚生年金保険料（厚生年金基金の掛金部分を含む。）、労働保険料、児童手当拠出金、身体障害者雇用納付金、労働基準法の休業補償及び退職手当引当金の年間事業者負担分とする（以下、同じ。）。

・年間理論総労働時間は、営業カレンダー等から年間所定営業日数を算出し、就業規則等から１日あたりの所定労働時間を算出し、これらを乗じて得た時間とする（以下、同じ。）。

○出向者（給与等の一部を委託先で負担している者）の時間単価の算定方法

出向者（給与等の一部を委託先で負担している者）の時間単価は、原則として下記により算定する。

人件費時間単価＝委託先が負担する（した）（年間総支給額＋年間法定福利費等）÷年間理論総労働時間

・事業従事者が出向者である場合の人件費の精算にあたっては、当該事業従事者に対する給与等が委託先以外（出向元等）から支給されているかどうか確認するとともに、上記計算式の年間総支給額及び年間法定福利費は、委託先が負担した額しか計上できないことに注意すること。

○管理者等の時間単価の算定方法

原則として管理者等の時間単価は、下記の（1）により算定する。ただし、やむを得ず時間外に当該委託事業に従事した場合は、（2）により算定した時間単価を額の確定時に適用する。

（1）原則

人件費時間単価＝（年間総支給額＋年間法定福利費等）÷年間理論総労働時間

（2）時間外に従事した場合

人件費時間単価＝（年間総支給額＋年間法定福利費等）÷年間実総労働時間

・時間外の従事実績の計上は、業務日誌以外にタイムカード等により年間実総労働時間を立証できる場合に限る。

・年間実総労働時間＝年間理論総労働時間＋当該委託事業及び自主事業等における時間外の従事時間数の合計。

4．一般競争入札により委託契約を締結する場合の例外について

一般競争入札により委託契約を締結する場合、受託規程で定める単価よりも低い受託単価又は本来の実績単価よりも低い実績単価を定めている場合は、精算時においても同単価により人件費を算定すること。

5．直接作業時間数を把握するための書類整備について

直接作業時間数の算定を行うためには、実際に事業に従事した事を証する業務日誌が必要となる。また、当該業務日誌において事業に従事した時間のほか、他の業務との重複がないことについて確認できるよう作成する必要がある。

【業務日誌の記載例】

（4月）　所属　○○○部 ××課　役職 ○○○○　氏名 ○○ ○○　時間外手当支給対象者か否か

日＼時	0	…	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24	業務時間及び業務内容
1				←A→				←B→												A(3h)○○検討会資料準備 B(5.25h)○○調査打ち合わせ
2				←A→				←A→			←C→									A(6h)○○検討会資料準備、検討会 C(2h)○○開発打ち合わせ
3				←D→				←B→			←A→									D(3h)自主事業 B(2h)○○調査打ち合わせ A(4h)現地調査事前準備
4				←A→																A(9.5h)○○調査現地調査
5				←A→				←D→												A(3h)○○検討会資料準備 D(5h)自主事業
・																				
・																				
・																				
・																				
30																				
31																				
勤務時間管理者　所属：○○部長 氏名：○○○○　印												A:○○○○委託事業(○○農政局) B:○○○○委託事業(○○農政局) C:○○○○補助事業(○○局) D:自主事業						合計		A(○○h) B(○○h) C(○○h) D(○○h)

① 人件費の対象となっている事業従事者毎の業務日誌を整備すること。（当該委託事業の従事時間と他の事業及び自主事業等に係る従事時間・内容との重複記載は認められないことに留意する。）

② 業務日誌の記載は、事業に従事した者本人が原則毎日記載すること。（数週間分まとめて記載することや、他の者が記載すること等、事実と異なる記載がなされることがないよう適切に管理すること。）

③ 当該委託事業に従事した実績時間を記載すること。なお、従事した時間に所定時間外労働（残業・休日出勤等）時間を含める場合は、以下の事由による場合とする。

・委託事業の内容から、平日に所定時間外労働が不可欠な場合。

・委託事業の内容から、休日出勤（例：土日にシンポジウムを開催等）が必要である場合で、委託先が休日手当を支給している場合。ただし、支給していない場合でも委託先において代休など振替措置を手当している場合は同様とする。

④ 昼休みや休憩時間など勤務を要しない時間は、除外すること。

⑤　当該委託事業における具体的な従事内容がわかるように記載すること。なお、出張等における移動時間についても当該委託事業のために従事した時間として計上することができるが、出張行程に自主事業等他の事業が含まれる場合は、按分計上を行う必要がある。

⑥　当該委託事業以外の業務を兼務している場合には、他の事業と当該委託事業の従事状況を確認できるように区分して記載すること。

⑦　委託先における勤務時間管理者は、タイムカード（タイムカードがない場合は出勤簿）等帳票類と矛盾がないか、他の事業と重複して記載していないかを確認のうえ、記名・押印する。

附　則

（施行期日）

1　この通知は、平成２２年９月２７日以降に制定する委託事業仕様書等に基づく委託事業から適用する。

（経過措置）

2　この通知の施行日現在、既に制定されている委託事業仕様書等に基づき実施されている平成２２年度の委託事業における人件費の算定等について、当該委託事業に係る委託元又は委託先において本通知の趣旨を踏まえた対応が可能な事項がある場合には、当該事項については、本通知により取り扱うものとする。

3　前項の委託事業仕様書等に基づく委託事業を平成２３年度以降も実施する場合には、本通知を適用する。